



| | |
|--------|--------------------|
| 项目批准号 | 81502751 |
| 申请代码 | H2201 |
| 归口管理部门 | |
| 依托单位代码 | 13001208A0528-0970 |



国家自然科学基金委员会

资助项目计划书

资助类别：青年科学基金项目

亚类说明：

附注说明：

项目名称：CD44/透明质酸偶联激活PI3K/Akt信号通路对提高肠干细胞修复放射性肠损伤的作用机制研究

直接费用：18万元 间接费用：3.6万元

项目资金：21.6万元 执行年限：2016.01-2018.12

负责人：常鹏宇

通讯地址：长春市新民大街71号

邮政编码：130021 电 话：0431-88783840

电子邮件：edvence@163.com

依托单位：吉林大学

联系人：朱峰 电 话：0431-85167419

填表日期：2015年08月24日



国家自然科学基金委员会资助项目计划书填报说明

- 一、项目负责人收到《关于国家自然科学基金资助项目批准及有关事项的通知》（以下简称《批准通知》）后，请认真阅读本填报说明，参照国家自然科学基金相关项目管理办法及《国家自然科学基金资助项目资金管理办法》（请查阅国家自然科学基金委员会官方网站首页“政策法规”-“管理办法”栏目），按《批准通知》的要求认真填写和提交《国家自然科学基金委员会资助项目计划书》（以下简称《计划书》）。
- 二、填写《计划书》时要求科学严谨、实事求是、表述清晰、准确。《计划书》经国家自然科学基金委员会相关项目管理部门审核批准后，将作为项目研究计划执行和检查、验收的依据。
- 三、《计划书》各部分填写要求如下：
 - （一）简表：由系统自动生成。
 - （二）摘要及关键词：各类获资助项目都必须填写中、英文摘要及关键词。
 - （三）项目组主要成员：计划书中列出姓名的项目组主要成员由系统自动生成，与申请书原成员保持一致，不可随意调整。如果批准通知中“项目评审意见及修改意见表”中“对研究方案的修改意见”栏目有调整项目组成员相关要求的，待项目开始执行后，按照项目成员变更程序另行办理。
 - （四）资金预算表：按批准资助的直接费用填报资金预算表和预算说明书，其中的劳务费、专家咨询费金额不应高于申请书中相应金额；间接费用及项目总经费由系统自动生成。国家重大科研仪器研制项目还应按照预算评审后批复的直接费用各科目金额填报资金预算表、预算说明书及相应的预算明细表。
 - （五）正文：
 1. 面上项目、青年科学基金项目、地区科学基金项目：如果《批准通知》中没有修改要求的，只需选择“研究内容和研究目标按照申请书执行”即可；如果《批准通知》中“项目评审意见及修改意见表”中“对研究方案的修改意见”栏目明确要求调整研究期限和研究内容等的，须选择“根据研究方案修改意见更改”并填报相关修改内容。
 2. 重点项目、重点国际（地区）合作研究项目、重大项目、国家重大科研仪器研制项目：须选择“根据研究方案修改意见更改”，根据《批准通知》的要求填写研究（研制）内容，不得自行降低、更改研究目标（或仪器研制的技术性能与主要技术指标以及验收技术指标）或缩减研究（研制）内容。此外，还要突出以下几点：
 - （1）研究的难点和在实施过程中可能遇到的问题（或仪器研制风险），拟采用的研究（研制）方案和技术路线；
 - （2）项目主要参与者分工，合作研究单位之间的关系与分工，重大项目还需说明课题之间的关联；
 - （3）详细的年度研究（研制）计划。



3. 国家杰出青年科学基金、优秀青年科学基金和海外及港澳学者合作研究基金项目：须选择“根据研究方案修改意见更改”，按下列提纲撰写：
 - (1) 研究方向；
 - (2) 结合国内外研究现状，说明研究工作的学术思想和科学意义（限两个页面）；
 - (3) 研究内容、研究方案及预期目标（限两个页面）；
 - (4) 年度研究计划；
 - (5) 研究队伍的组成情况。
4. 对于其他类型项目，参照面上项目的方式进行选择和填写。



简表

| | | | | | | | | |
|--------|---------------|---|----|------|--------------------|----------|---------------|---------------|
| 申请者信息 | 姓名 | 常鹏宇 | 性别 | 男 | 出生年月 | 1986年12月 | 民族 | 汉族 |
| | 学位 | 博士 | | | 职称 | 医师 | | |
| | 电话 | 0431-88783840 | | 电子邮件 | edvence@163.com | | | |
| | 传真 | | | 个人网页 | | | | |
| | 工作单位 | 吉林大学 | | | | | | |
| | 所在院系所 | 第一临床医学院 | | | | | | |
| 依托单位信息 | 名称 | 吉林大学 | | | | 代码 | 13001208A0528 | |
| | 联系人 | 朱峰 | | 电子邮件 | zhufeng@jlu.edu.cn | | | |
| | 电话 | 0431-85167419 | | 网站地址 | www.jlu.edu.cn | | | |
| 合作单位信息 | 单位名称 | | | | | | | 代码 |
| | 中国科学院上海巴斯德研究所 | | | | | | | 20002512B0047 |
| | | | | | | | | |
| 项目基本信息 | 项目名称 | CD44/透明质酸偶联激活PI3K/Akt信号通路对提高肠干细胞修复放射性肠损伤的作用机制研究 | | | | | | |
| | 资助类别 | 青年科学基金项目 | | | 亚类说明 | | | |
| | 附注说明 | | | | | | | |
| | 申请代码 | H2201:放射医学 | | | C100309:干细胞移植与组织再生 | | | |
| | 基地类别 | | | | | | | |
| | 执行年限 | 2016.01-2018.12 | | | | | | |
| | 直接费用 | 18万元 | | | 间接费用 | 3.6万元 | | |
| | 项目资金 | 21.6万元 | | | | | | |



项目摘要

中文摘要(500字以内):

我们前期已建立小鼠CD44阳性肠干细胞的分选培养体系,但目前尚未见使用该细胞修复放射性肠损伤的研究报道。为此,本项目将对这一问题展开研究并探索CD44阳性肠干细胞在损伤环境下抵御凋亡的机制。CD44为透明质酸的受体。二者偶联所介导的细胞黏附及抗凋亡作用在肿瘤转移模型中被证实;其中,细胞凋亡抗性提高系PI3K/Akt通路激活所致。这是开展本项目的理论基础。我们通过建立以透明质酸为基础的‘细胞迁徙’和‘细胞抗凋亡’体外模型,分别研究CD44/透明质酸偶联对促进肠干细胞定植的作用;及其激活PI3K/Akt通路对提高肠干细胞凋亡抗性的分子机制。另外,建立放射性肠损伤NOD/SCID小鼠模型,以Cd44基因敲除肠干细胞为对照;通过比较CD44阳性肠干细胞和CD44阴性肠干细胞在损伤部位的定植效率、凋亡数量和表达PI3K/Akt通路下游相关凋亡分子水平的差异,评价CD44阳性肠干细胞修复肠损伤的优势。

关键词: 肠干细胞; 放射性肠损伤; CD44; 透明质酸; 信号通路

Abstract(limited to 4000 words):

In our preliminary work, the system for both sorting and culturing murine CD44-positive intestinal stem cells had been established. However, no one reports the results indicating whether the intestinal stem cells have therapeutic potentials for radiation-induced intestinal injury. To this end, we plan to do this research aiming at determining the therapeutic effects of CD44-positive intestinal stem cells on injured epithelium induced by ionizing irradiation, and exploring the intrinsic mechanisms by which intestinal stem cells repair epithelial injuries. CD44, a surface antigen, is the receptor of hyaluronic acid. Coupling between CD44 and hyaluronic acid will initiate the adhesive process of cancer cells and increase their anti-apoptotic potentials, which is predominantly driven by PI3K/Akt signalling pathway. On this basis, we attempt to establish the hyaluronic acid based models of ‘Cell-migration’ and ‘Anti-apoptosis’ in vitro for mimicking the adhesion of intestinal stem cells to injured sites in vivo, and exploring mechanism by which PI3K/Akt enhances capability of intestinal stem cells in defending injured milieu-induced cell-apoptosis. In vivo, we try to establish a NOD/SCID mouse model of radiation-induced intestinal injury to determine the therapeutic effects of CD44-positive intestinal stem cells on epithelial injuries. By comparing to the intestinal stem cells of Cd44 gene knock-out, we try to evaluate the advantages of CD44-positive intestinal stem cells in the following aspects, including their engrafting efficacies in injured sites, their apoptosis and the expressions of apoptosis-related molecules downstreaming of PI3K/Akt signalling pathway.

Keywords: Intestinal stem cell; Radiation-induced intestinal injury; CD44; Hyaluronic acid; Signalling pathway



项目组主要成员

| 编号 | 姓名 | 出生年月 | 性别 | 职称 | 学位 | 单位名称 | 电话 | 证件号码 | 项目分工 | 每年工作时间(月) |
|-----|-----|---------|----|-------|----|---------------|---------------|--------------------|---------------------------|-----------|
| 1 | 常鹏宇 | 1986.12 | 男 | 医师 | 博士 | 吉林大学 | 0431-88783840 | 210521198612110417 | 项目负责人 | 6 |
| 2 | 张伯寅 | 1986.11 | 男 | 医师 | 博士 | 吉林大学 | 0431-84995151 | 220502198611230014 | 数据统计分析 | 4 |
| 3 | 袁秀杰 | 1983.01 | 女 | 助理研究员 | 硕士 | 中国科学院上海巴斯德研究所 | 021-54923136 | 370781198301222245 | 转基因小鼠繁育及基因表型鉴定 | 4 |
| 4 | 高艳丽 | 1982.05 | 女 | 医师 | 硕士 | 吉林大学 | 0431-88782935 | 140322198205132720 | 肠干细胞的分选与培养 | 4 |
| 5 | 周筱刚 | 1955.11 | 男 | 实验师 | 学士 | 中国科学院上海巴斯德研究所 | 021-54923136 | 310101195511132011 | 激光捕获微切割实验及转基因小鼠繁育 | 4 |
| 6 | 宋宇哲 | 1985.09 | 男 | 硕士生 | 学士 | 吉林大学 | 0431-88783840 | 230231198509105759 | 肠干细胞修复放射性肠损伤动物实验 | 6 |
| 7 | 侯雪 | 1990.11 | 女 | 硕士生 | 学士 | 吉林大学 | 0431-88783840 | 220103199011220022 | ‘细胞迁徙’和‘细胞抗凋亡’模型建立及相关分生实验 | 6 |
| 总人数 | | | | 高级 | 中级 | 初级 | 博士后 | 博士生 | 硕士生 | |
| 7 | | | | 0 | 2 | 3 | 0 | 0 | 2 | |



国家自然科学基金项目资金预算表（定额补助）

项目名称： CD44/透明质酸偶联激活PI3K/Akt信号通路对提高肠干细胞修复放射性肠损伤的作用机制研究

项目负责人：常鹏宇

金额单位：万元

| 序号 | 科目名称 | 金额 | 备注 |
|----|----------------------|---------|----------------------|
| | (1) | (2) | (3) |
| 1 | 一、项目资金支出 | 21.6000 | / |
| 2 | (一) 直接费用 | 18.0000 | |
| 3 | 1、设备费 | 0.0000 | |
| 4 | (1) 设备购置费 | 0.0000 | |
| 5 | (2) 设备试制费 | 0.0000 | |
| 6 | (3) 设备改造与租赁费 | 0.0000 | |
| 7 | 2、材料费 | 12.5000 | 实验动物、抗体、试剂盒以及常用耗材等费用 |
| 8 | 3、测试化验加工费 | 1.4000 | 共聚焦显微镜/流式细胞仪等样本测试费 |
| 9 | 4、燃料动力费 | 0.0000 | |
| 10 | 5、差旅费 | 0.5000 | 国内会议住宿及交通费用 |
| 11 | 6、会议费 | 0.2000 | 国内会议注册费用 |
| 12 | 7、国际合作与交流费 | 0.0000 | |
| 13 | 8、出版/文献/信息传播/知识产权事务费 | 1.0000 | 论文发表版面费/专利申请相关费用 |
| 14 | 9、劳务费 | 2.4000 | 直接参加项目研究的研究生的劳务费 |
| 15 | 10、专家咨询费 | 0.0000 | |
| 16 | 11、其他支出 | 0.0000 | |
| 17 | (二) 间接费用 | 3.6000 | |
| 18 | 其中：绩效支出 | 0.9000 | |
| 19 | 二、自筹资金 | 0.0000 | |



预算说明书

(请对各项支出的主要用途和测算理由及合作研究外拨资金等内容进行详细说明,可根据需要另加附页。)

国家自然科学基金-青年科学基金项目《CD44/透明质酸偶联激活PI3K/Akt信号通路对提高肠干细胞修复放射性肠损伤的作用机制研究》(项目编号:81502751)。本项目预初申请31.2万元,其中直接经费26万元,间接经费5.2万元。经国家自然科学基金委员会批准,获得资助的直接经费共计18万元。现将项目预算说明书重新做出调整,如下:

一、材料费12.5万元,其中包括:

- 1.实验动物3.5万元:1对Cd44^{-/-}小鼠(B6.129(Cg)-Cd44^{tm1Hbg/J})纯合子,共0.5万元;5周龄NOD/SCID小鼠,约150只,200元/只,共3万元。
- 2.转基因小鼠种群繁育费1万元: Cd44^{-/-}小鼠和Cd44IRES-mCherry小鼠种群扩增费用,包括购买动物垫料及饲料等。
- 3.抗体费2.5万元: 主要包括单克隆小鼠SRY、透明质酸酶、Akt、p-Akt、Caspase-3、cleaved Caspase-3、Bax和Bcl-2抗体;用于Western-blotting实验和免疫荧光染色实验。另外,还包括单克隆小鼠EphB2抗体,用于FACS分选CD44^{-/-}肠干细胞; Annexin V/PI抗体,用于FACS分析肠干细胞凋亡。
- 4.分子生物学实验费用1.5万元: 包括购买DNA/RNA提取试剂盒、SYBR Green I 探针、琼脂糖及合成引物等,用于本项目中Real-time PCR实验;另需购买RIPA buffer、TEMED、SDS和LY294002等,用于本项目中Western-blotting实验。
- 5.肠干细胞培养相关费用3万元: 包括购买Jagged-1、Wnt3a、Noggin、R-spondin1和EGF;培养基及添加剂Advanced DMEM/F12、Y-27632、N-Ace、B27、N2、GlutaMAX、HEPES及双抗等;无酚红Matrigel半固体培养基及透明质酸。
- 6.实验室常用耗材1万元: 如EP管、枪头、15ml/50ml离心管、20 μ m、40 μ m、70 μ m 细胞滤网、12孔、24孔、96孔板等。用于肠干细胞分离培养。

二、测试化验加工费1.4万元: 主要包括激光共聚焦显微镜、激光捕获微切割仪器、流式细胞分选仪器和高通量测序仪等大型仪器使用费。上述仪器分别满足组织/细胞成像、组织内目的细胞的切割、肠干细胞的分选和转基因小鼠表型鉴定等实验需求。

三、会议费及差旅费0.7万元: 用于项目负责人参加国内会议所产生的住宿费、交通费及会议注册费。其中约0.5万元用于支付差旅费;0.2万元用于支付会议注册费。

四、出版/文献/信息传播/知识产权事物费1万元: 用于支付论文版面费/专利申报费。

五、劳务费2.4万元: 本项目参研的2名研究生,按其每年工作6个月计算,每月发放1000元劳务费(从项目资助时间起至研究生毕业止,共2年)。

说明: 本项目无设备购置、试制、改造及租赁计划;项目无国际合作及交流计划;项目无专家咨询计划。因此,项目直接费用中不包含此类费用的预算。另外,本项目依托单位为鼓励基金申报,将对获资助的项目免费提供水、电等支持。因此,本项目直接费用中不包含能源动力费用的预算。本项目前期工作中剩余Villin、Muc2、ChrA和Lysozyme抗体;以及TUNEL原位凋亡试剂盒。此部分试剂无需购买。部分试剂原计划购买进口产品,现改为国产产品。例如,PCR中涉及到的琼脂糖、Western-blotting实验中涉及到的RIPA buffer、TEMED、SDS等以及15ml/50ml离心管、20 μ m、40 μ m、70 μ m 细胞滤网、12孔、24孔、96孔板等耗材。另外,项目会议差旅费及注册费由最初2万元缩减至0.7万元,此项目中仅包括了项目负责人参会,超支部分由项目负责人自行承担。

项目负责人签字:

科研部门公章:

财务部门公章:





报告正文

研究内容和研究目标按照申请书执行。



国家自然科学基金资助项目签批审核表

| <p>我接受国家自然科学基金的资助，将按照申请书、项目批准意见和计划书负责实施本项目（批准号：81502751），严格遵守国家自然科学基金委员会关于资助项目管理、财务等各项规定，切实保证研究工作时间，认真开展研究工作，按时报送有关材料，及时报告重大情况变动，对资助项目发表的论著和取得的研究成果按规定进行标注。</p> <p style="text-align: right; margin-top: 20px;">项目负责人（签章）： 年 月 日</p> | <p>我单位同意承担上述国家自然科学基金项目，将保证项目负责人及其研究队伍的稳定和研究项目实施所需的条件，严格遵守国家自然科学基金委员会有关资助项目管理、财务等各项规定，并督促实施。</p> <p style="text-align: right; margin-top: 20px;">依托单位（公章） 年 月 日</p> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|--|-----|-----|-----|-----|-----|-------------------|-------------------|----|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| 本 栏 目 由 基 金 委 填 写 | 科学处审查意见： | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 建议年度拨款计划（本栏目为自动生成，单位：万元）： | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th style="width: 10%;">年度</th> <th style="width: 10%;">总额</th> <th style="width: 10%;">第一年</th> <th style="width: 10%;">第二年</th> <th style="width: 10%;">第三年</th> <th style="width: 10%;">第四年</th> <th style="width: 10%;">第五年</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>金额</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> | 年度 | 总额 | 第一年 | 第二年 | 第三年 | 第四年 | 第五年 | 金额 | | | | | | | | | | | | |
| 年度 | 总额 | 第一年 | 第二年 | 第三年 | 第四年 | 第五年 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 金额 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 科学部审查意见： | | | | | | | 负责人（签章）： 年 月 日 | | | | | | | | | | | | | | |
| 本 栏 目 主 要 用 于 重 大 项 目 等 | 相关局室审核意见： | | | | | | | 负责人（签章）： 年 月 日 | | | | | | | | | | | | | |
| | 委领导审批意见： | | | | | | | 委领导（签章）： 年 月 日 | | | | | | | | | | | | | |